

Influence de la température, de l'intensité lumineuse et du stade de croissance sur la composition biochimique de *Chlorella sorokiniana* Shihira & Krauss

M. Belkoura¹
A. Benider¹
A. Dauta²

Mots clés : *Chlorella sorokiniana*, protéines, glucides, lipides, conditions environnementales.

Dans une optique de valorisation de l'algue verte *Chlorella sorokiniana*, la composition biochimique de cette espèce a été déterminée en fonction de la température d'incubation, de l'intensité lumineuse et du stade de croissance. A 35°C, sous un éclairage de 140 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, et en phase exponentielle de croissance, les analyses effectuées ont révélé que la biomasse algale était composée d'environ 40 % de protéines, 30 % de glucides et 18 % de lipides (% de la matière sèche des cellules). Les résultats obtenus ont montré également que les teneurs de ces constituants dépendaient étroitement des conditions de culture. Ainsi, il est possible d'orienter le métabolisme cellulaire de cette espèce vers la production du ou des métabolites souhaités, en choisissant les conditions environnementales appropriées et le moment de la récolte de la biomasse algale.

Effects of temperature, light intensity and growth phase on the biochemical composition of *Chlorella sorokiniana* Shihira & Krauss

Keywords : *Chlorella sorokiniana*, proteins, carbohydrates, lipids, environmental factors.

In view of the valorization of the green alga *Chlorella sorokiniana*, the biochemical composition of this species was determined as a function of temperature, light intensity and growth phase. At 35°C, under an irradiance of 140 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, and at the exponential growth phase, the algal biomass contains about 40 % of proteins, 30 % of carbohydrates and 18 % of lipids (% of cellular dry weight). The relative amounts of these compounds are closely dependent on environmental factors and culture age. So, by selecting the suitable environmental conditions and the harvesting time, it is possible to orient the cellular metabolism to the production of the desirable compounds.

1. Introduction

Avec plus de 20 000 espèces répertoriées à ce jour, les microalgues constituent un groupe d'organismes autotrophes très diversifié aussi bien sur le plan biologique et écologique qu'aux niveaux métabolique et biochimique. A ce titre, les possibilités de valorisation de cette richesse naturelle apparaissent donc très importantes. De nombreux produits intéressent les industries chimiques, agroalimentaires, pharmaceutiques, cosmétiques et autres peuvent être extraits de bio-

masses d'algues (Debro & Ward 1979, Leavitt 1983, Fattom & Shilo 1984, Moulton et al. 1987, Borowitzka 1988a, Cannell et al. 1988, Schwartz et al. 1988, Gromov et al. 1991). Par ailleurs, leur composition biochimique, particulièrement intéressante (teneur élevée en protéines, bonne composition en acides gras et acides aminés), en fait une source alimentaire de bonne qualité tant pour les animaux que pour les humains (Becker 1988). La composition biochimique des microalgues peut, en outre, être modifiée en fonction des conditions de culture (lumière, température, source d'azote, rapport N/P, etc...). Ainsi, il est possible d'obtenir des biomasses qui présentent les caractéristiques préférées.

Des études antérieures réalisées sur l'algue verte *Chlorella sorokiniana* ont montré que cette espèce était potentiellement valorisable et susceptible d'être cultivée en masse sous les conditions climatiques qui règnent à Marrakech (Maroc) (Belkoura & Dauta 1992, 1994a, 1994b, Belkoura 1994). Dans cette op-

1. Equipe Biotechnologie Algale. JER 5001 associée à l'AUPELF-UREF. Laboratoire de Physiologie Végétale, Faculté des Sciences Semlalia, Avenue du Prince Moulay Abdellah, BP S15, Marrakech, Maroc.

2. Centre d'Ecologie des Systèmes Aquatiques Continentaux. UMR C 5576 CNRS, Université Paul Sabatier, 118 route de Narbonne, F-31062 Toulouse Cedex, France.

tique, nous avons été amenés à analyser sa composition biochimique (protéines, glucides, lipides) à deux stades de croissance (phase exponentielle et phase stationnaire), et à étudier l'influence de facteurs environnementaux (température et intensité lumineuse) sur la biosynthèse de ces constituants.

2. Matériel et méthodes

2.1. Conditions de culture

C. sorokiniana Shihira & Krauss est cultivée en milieu fini, sur un milieu entièrement minéral (Dauta 1982). La souche utilisée est axénique. Les cultures sont fortement bullées (0,5 l d'air.l⁻¹ de culture.min⁻¹) avec de l'air comprimé filtré (filtre 0,2 µm) insufflé à la base des flacons. La souche mère utilisée est maintenue en phase exponentielle de croissance par des repiquages fréquents (2 à 3 jours) dans les conditions suivantes:

- Température: 30°C,
- Intensité lumineuse: 140 µE.m⁻².s⁻¹,
- Photopériode (Lumière/Obscurité): 15/9.

Pour les différentes expériences, les algues sont cultivées dans des erlenmeyers de 2 litres. Les expériences sont réalisées en bain thermostaté transparent ($\pm 0,5^\circ\text{C}$). L'éclairage est dispensé par une rampe de 10 tubes néons de 40 W chacun (tubes Philips, lumière du jour), placée à la verticale des cultures. L'intensité lumineuse est variée, le cas échéant, en modifiant la distance qui sépare la rampe d'éclairage et la culture. La mesure des intensités lumineuses incidentes est réalisée à l'aide d'un quantamètre Li-Cor 185A.

Avant les expériences destinées aux différentes analyses biochimiques, les cultures sont préadaptées aux conditions de température et d'intensité lumineuse retenues au cours de repiquages successifs (au moins 3).

Pour toutes les analyses, à l'exception de celles relatives à l'étude de la composition biochimique en fonction du stade de croissance, les algues sont récoltées en phase exponentielle de croissance (3^{ème} jour).

Les analyses portant sur les cultures en phase stationnaire de croissance sont réalisées sur les algues récoltées au 8^{ème} jour de culture (début de la phase stationnaire de croissance).

2.2. Méthodes d'analyses

La détermination de la matière sèche (MS) est réalisée sur des échantillons de 100 à 200 ml selon la densité de la culture. La suspension cellulaire est filtrée sur un filtre en fibre de verre (filtre Whatman GF/C, diamètre 47 mm, porosité 1,2 µm) séché et pesé au préalable (Balance Mettler AE260, Précision: $\pm 10^{-4}$ g).

Le filtre est ensuite séché dans une étuve à 80°C jusqu'à poids constant. La différence des pesées permet de déterminer le poids de la matière sèche de l'échantillon. Les résultats correspondent à la moyenne de trois réplicats.

— Le dosage des protéines a été effectué sur des échantillons de 5 à 10 ml selon l'état physiologique. L'extraction du matériel protéique cellulaire a été réalisée par la technique de Rausch (1981) modifiée par l'ajout de désoxycholate de sodium à 2 % (solubilisateur des protéines membranaires) et le dosage par la méthode de Bensadoun & Weinstein (1976). Les résultats sont donnés à partir de six à neuf réplicats et sont exprimés en équivalent BSA (sérum albumine bovine).

— Le dosage des glucides a été effectué par la méthode à l'antrone, modifiée par Shields & Burnet (1960) sur des échantillons de 5 ml. Les résultats, obtenus à partir de cinq réplicats, sont exprimés en équivalents glucose.

— L'extraction et le dosage des lipides ont été réalisés selon le protocole décrit par Kates (1972).

3. Résultats

3.1. Influence de la température sur la composition biochimique de *C. sorokiniana*

La figure 1 illustre les variations des teneurs en protéines, en glucides et en lipides sous l'effet de la température du milieu de culture. Dans l'intervalle 25-30°C, on observe un accroissement relativement important de la biosynthèse des protéines et des glucides, avec une légère augmentation du rapport glyco-protéique (0,71 et 0,86 respectivement à 25 et 30°C). Entre 30 et 35°C, l'influence de la température du milieu de culture se fait beaucoup moins ressentir; alors que les teneurs en protéines passent de 365 à 385 mg/g MS celles en glucides ont une légère tendance à la baisse (Fig. 1). Ce résultat est d'ailleurs confirmé par la réduction du rapport glyco-protéique (de 0,86 à 30°C à 0,77 à 35°C). Chez *C. sorokiniana*, cultivée à 25°C, les lipides représentent environ 13 % de la matière sèche des cellules (Fig. 1). Ces teneurs peuvent être modifiées à la hausse (jusqu'à 18 %) en cultivant cette espèce à des températures plus élevées (30 et 35°C, Fig. 1).

3.2. Influence de l'intensité lumineuse incidente sur la composition biochimique de *C. sorokiniana*

Les variations de la composition biochimique de *C. sorokiniana*, cultivée sous deux intensités lumineuses différentes sont reportées dans le tableau 1. L'analyse des résultats obtenus montre que la synthèse protéique ne semble pas être affectée de manière significative

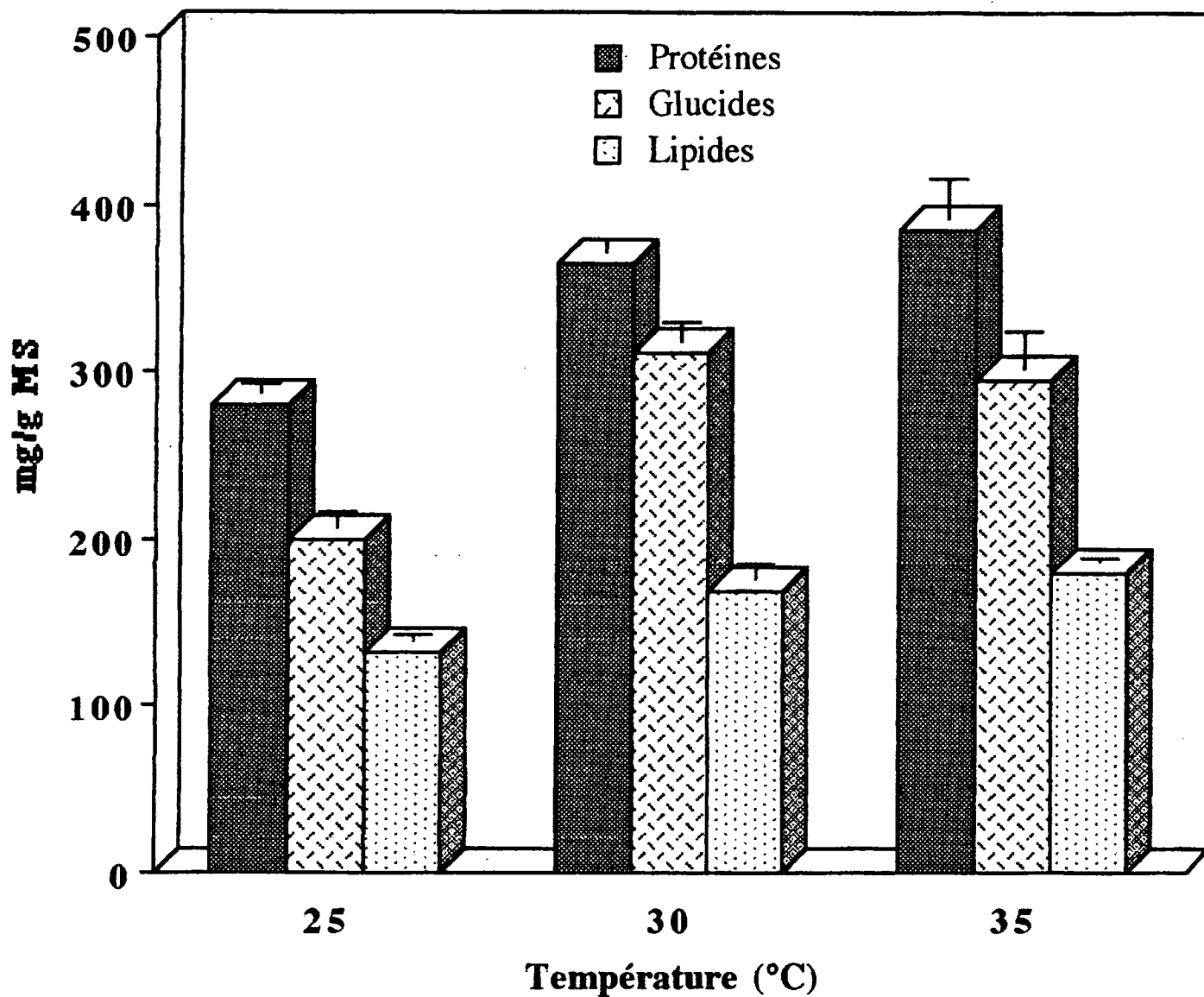


Fig. 1. Evolution de la composition biochimique de *Chlorella sorokiniana* en fonction de la température de culture. (Intensité lumineuse = $140 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Les analyses ont été effectuées en phase exponentielle de croissance. Les valeurs correspondent à la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales indiquent l'écart-type de la moyenne).

Fig. 1. Changes in the biochemical composition of *Chlorella sorokiniana* as a function of the cultivation temperature. (Light intensity = $140 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Analysis made at the exponential growth phase. All data are the mean of three replicate cultures. Vertical bars denote the standard deviation).

Tableau 1. Influence de l'intensité lumineuse sur la composition biochimique de *Chlorella sorokiniana*. Température : 30°C . Les analyses ont été effectuées en phase exponentielle de croissance.

Table 1. Effect of light intensity on the biochemical composition of *Chlorella sorokiniana*. Temperature = 30°C . Analysis made at the exponential growth phase.

	Intensité lumineuse ($\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	
	70	140
Protéines (mg/g MS)	328 ± 19	365 ± 6
Glucides (mg/g MS)	211 ± 17	312 ± 10
Lipides (mg/g MS)	248 ± 15	168 ± 10
Rapport glyco-protéique	0,64	0,86

par l'intensité lumineuse incidente; la différence des teneurs en protéines, pour les deux situations expérimentales, ne dépasse guère 10 % environ. En ce qui concerne les composés glucidiques, on observe au contraire une accumulation beaucoup plus accentuée (+ 48%) de ces composés lorsque les cultures sont réalisées sous une intensité lumineuse de $140 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Dans ces conditions, le rapport glyco-protéique atteint une valeur de 0,86. La biosynthèse des constituants lipidiques est également influencée par l'intensité lumineuse incidente. Sous un faible éclairage ($70 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), les teneurs en lipides représentent près du quart de la matière sèche des cellules, soit une augmentation de 32 % par rapport aux cultures réalisées sous une intensité lumineuse de $140 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$.

3.3. Evolution de la composition biochimique de *C. sorokiniana* en fonction du stade de croissance

Les courbes de croissance des microalgues en culture *in vitro* sont caractérisées essentiellement par 2 phases distinctes: une phase exponentielle et une phase stationnaire. Au cours de ces deux phases de croissance, le métabolisme cellulaire subit de multiples modifications aboutissant en particulier à des variations quantitatives et qualitatives de la composition biochimique des cellules. Chez *C. sorokiniana*, ces variations affectent essentiellement les synthèses protéique et glucidique et dans une moindre mesure le métabolisme lipidique (Tableau 2). En effet, les analyses biochimiques effectuées sur des cultures en phase stationnaire de croissance font apparaître une faible réduction des teneurs en lipides (de 13 % seulement) mais une diminution de près du tiers des teneurs en protéines. Inversement, les teneurs des composés glucidiques enregistrent un accroissement considérable avec une amplitude similaire à celle des constituants protéiques (+ 31 %). En conséquence, le rapport glyco-protéique des cellules en phase stationnaire de croissance est multiplié par un facteur voisin de 2, par comparaison à celui de cultures en phase exponentielle de croissance (Tableau 2).

4. Discussion

De par leur diversité spécifique (plus de 70 souches différentes: Kessler 1976) et leur capacité d'adaptation à des conditions environnementales très variées (Kessler 1980, 1985, 1986) les espèces du genre *Chlorella* font partie des microalgues susceptibles d'être exploitées dans divers domaines d'intérêt alimentaire ou industriel. Cependant, la valorisation de la biomasse algale nécessite au préalable une parfaite connaissance

de la composition biochimique de ces espèces et des variations qui peuvent être induites sous l'influence des facteurs environnementaux. Dans cette perspective, nous avons entrepris la caractérisation biochimique des principaux constituants cellulaires (protéines, glucides, lipides) de l'algue verte *C. sorokiniana* cultivée dans différentes situations expérimentales.

Les analyses effectuées révèlent que les protéines représentent, en phase exponentielle de croissance, la part la plus importante des composés cellulaires; leurs teneurs pouvant atteindre, dans des conditions de température et d'intensité lumineuse bien définies (35°C, 140 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), environ 40 % de la matière sèche des cellules. Ces teneurs sont comparables à celles de la plupart des espèces du même genre (Tableau 3), bien que des valeurs nettement plus élevées (jusqu'à 60 % environ de la matière sèche des cellules) soient rapportées dans la littérature (Trubachev et al. 1976, Vladimirova et al. 1979, Aaronson et al. 1980). Une analyse approfondie des travaux cités montre cependant que les dosages effectués sur les souches en question (Tableau 3) sont basés sur la détermination du contenu cellulaire en azote total; les teneurs en protéines étant obtenues en multipliant les valeurs de ce paramètre par un facteur égal à 6,25. D'après Becker (1988), cette procédure est à l'origine d'une surévaluation du contenu en protéines dans la mesure où une part non négligeable de l'azote provient d'autres constituants cellulaires (acides nucléiques, pigments, etc...). A titre d'exemples, la quantité d'azote non protéique représente 6, 11,5, 12 et 20% de l'azote total, respectivement chez *Dunaliella primolecta* Butcher (Gibbs & Duffus 1976), *Spirulina maxima* (Setch et Gardner) Geith. (Durand-Chastel 1982), *Scenedesmus acutus* Meyen (Subbulakshmi et al. 1976) et *Spirulina platensis* Nordst. (Boussiba & Richmond 1980). Dans le même ordre d'idées, les travaux de Rausch (1981) ont permis de démontrer que, pour une même souche d'algue, l'évaluation des teneurs en protéines aboutissait le plus souvent à des résultats très différents selon les techniques d'extraction et de dosage utilisées.

Au delà de ces problèmes d'ordre technique, l'étude réalisée chez *C. sorokiniana* a confirmé l'existence d'une influence déterminante des conditions environnementales (en particulier de la température du milieu de culture) et du stade de croissance sur les teneurs en protéines des cellules. Les travaux effectués sur d'autres espèces d'algues vont également dans le même sens et soulignent de plus l'intervention d'autres facteurs sur les synthèses protéiques. Ainsi, outre l'influence de la température (Foy 1983, Piquemal 1990, Semenenko 1993) et du stade de croissance (Flaak & Epifanio 1978, Chu et al. 1993), des variations consi-

Tableau 2. Evolution de la composition biochimique de *Chlorella sorokiniana* en fonction de la phase de croissance. (Température = 35°C, Intensité lumineuse = 140 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$).

Table 2. Changes in the biochemical composition of *Chlorella sorokiniana* as function of the growth phase. (Temperature = 35°C, Light intensity = 140 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$).

	Phase de croissance	
	Exponentielle	Stationnaire
Protéines (mg/g MS)	385 ± 24	269 ± 8
Glucides (mg/g MS)	295 ± 21	386 ± 18
Lipides (mg/g MS)	180 ± 2	157 ± 6
Rapport glyco-protéique	0,77	1,44

Espèce	% de la matière sèche			Références
	Protéines	Glucides	Lipides	
<i>C. capsulata</i>	-	-	11,7	Boussiba et al. 1985
<i>C. ellipsoidea</i> Sk	43,0	15,0	-	Zhukova et al. 1969
<i>C. ellipsoidea</i> LARG-2	43,6	13,0	-	" " "
<i>C. luteoviridis</i>	-	-	17,5	Boussiba et al. 1985
<i>C. pyrenoïdosa</i> 19 N/V	51,8	18,2	-	Zhukova et al. 1969
<i>C. pyrenoïdosa</i> TKh-7-11-05	57,0	10,9	-	" " "
<i>C. pyrenoïdosa</i> 82 T	55,0	31,8	-	Vladimirova et al. 1979
<i>C. pyrenoïdosa</i> 82	59,3	24,0	-	" " "
<i>C. pyrenoïdosa</i> Chick	-	-	14,4	Shifrin & Chisholm 1980
<i>C. pyrenoïdosa</i>	57,0	2,0	26,0	Aaronson et al. 1980
<i>C. regularis</i>	41,2	-	16,1	Endo et al. 1974
<i>C. spp</i> 37	47,6	6,6	-	Zhukova et al. 1969
<i>C. spp</i> R-1	43,3	11,4	-	" " "
<i>C. spp</i> K	46,2	18,4	-	" " "
<i>C. spp</i> SO-10	44,0	18,7	-	" " "
<i>C. spp</i>	-	-	15-27	Materassi et al. 1980
<i>C. vulgaris</i> (NO ₃) ^a	31,1	-	21,8	Piorreck et al. 1984
<i>C. vulgaris</i> (NH ₄) ^b	31,2	-	11,8	" " "
<i>C. vulgaris</i>	26,9	21,1	-	Piquemal 1990
<i>C. vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22	Trubachev et al. 1976
<i>C. vulgaris</i> Cu tolérant	-	-	40,6	Shifrin & Chisholm 1980
<i>C. vulgaris</i> Cu intolérant	-	-	28,8	" " "
<i>C. vulgaris</i> 62	50,6	8,0	-	Zhukova et al 1969
<i>C. vulgaris</i> 157	49,9	10,3	-	" " "
<i>C. vulgaris</i> LARG-1	42,5	20,6	-	" " "
<i>C. vulgaris</i> 23	46,6	16,5	-	" " "

a & b : espèce cultivée respectivement sur un milieu contenant KNO₃ ou NH₄Cl.

Tableau 3. Données de la littérature relatives à la composition en protéines, glucides et lipides chez différentes espèces du genre *Chlorella*.

Table 3. Bibliographic data for protein, carbohydrate and lipid contents in the *Chlorella* spp.

dérables du contenu en protéines ont été mises en évidence, chez de nombreuses espèces d'algues, sous l'effet de facteurs tels que: la photopériode (Foy & Gibson 1982, Gibson 1985, Chu et al. 1993), l'intensité lumineuse (Harrison et al. 1990, Renaud et al. 1991), la qualité de la lumière (Kowallik 1978, Morris 1981), la nature et la concentration de la source azotée (Piorreck et al. 1984, Harrison et al. 1990, Fabregas et al. 1993), la pression osmotique du milieu de culture (Ben-Amotz et al. 1985), l'apport en matière organique (En-

do et al. 1974), etc... Cette multitude de travaux démontre, si besoin est, que l'optimisation de la production de protéines par les algues passe nécessairement par une connaissance approfondie des interactions de l'ensemble de ces facteurs sur la biosynthèse de ces composés. En tout état de cause, les Chlorophycées sont considérées comme des organismes riches en protéines, par comparaison à d'autres groupes d'algues tels que les Bacillariophycées ou encore les Dinophycées (Morris 1981).

Deuxième groupe de composés, de par leur importance quantitative, les glucides représentent chez *C. sorokiniana* entre 19,9 et 38,6 % de la matière sèche des cellules. Ces valeurs s'insèrent dans la gamme de concentrations déterminée pour diverses souches appartenant au genre *Chlorella* (Tableau 3). L'importante variation enregistrée chez *C. sorokiniana* est directement liée à l'influence des facteurs environnementaux (température et intensité lumineuse) sur la synthèse de ces constituants ; l'accumulation des composés glucidiques s'accroît, en effet, à des températures et des intensités lumineuses relativement élevées (30 & 35°C, 140 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Des observations similaires ont été effectuées sur d'autres espèces d'algues. Chez *Euglena gracilis* Klebs, l'augmentation de l'intensité lumineuse (de 65 à 3000 foot candles) provoque une accumulation très intense (de 38 à 377 $\text{pg}\cdot\text{cellule}^{-1}$) de paramylon (Cook 1963). De même, un accroissement de la production d'hydrates de carbone, en réponse à des éclaircissements importants, a été mis en évidence chez *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin (Morris et al. 1974), *Merismopedia tenuissima* Lemm. (Konopka & Schnur 1980), *Oscillatoria redekei* (Foy & Gibson 1982), *Porphyridium cruentum* (Gray) Näg. (Dermoun 1987), *Nannochloropsis oculata* et *Isochrysis* Parke sp. (Renaud et al. 1991).

Par ailleurs, les effets de la température du milieu de culture sur la production de glucides chez *C. sorokiniana* ne semblent pas être spécifiques à cette espèce, mais ont été observés également chez *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin (Morris et al. 1974), *Porphyridium cruentum* (Dermoun 1987), ou encore *Synechocystis minima* Bourr., *Ankistrodesmus falcatus* (Corda) Ralfs, *Chlorella vulgaris* Beijerinck et *Anabaena cylindrica* Lemm. (Piquemal 1990).

Aux températures et aux intensités lumineuses élevées, l'orientation préférentielle du métabolisme cellulaire vers une accumulation des composés glucidiques, sous forme d'amidon, de paramylon, ou d'autres polysaccharides, s'explique notamment par une activation des mécanismes photosynthétiques aboutissant à une synthèse accrue de ces molécules (Robinson & Walker 1981).

Outre les 2 facteurs — température et intensité lumineuse — retenus dans cette étude, de nombreux travaux font état d'une influence déterminante de la composition du milieu de culture (en particulier des apports en azote), du pH, de la photopériode et de la qualité de la lumière sur le contenu en hydrates de carbone de différentes espèces d'algues (Wallen & Geen 1971, Morris 1981, Foy & Gibson 1982, Ben-Amotz et

al. 1985, Dermoun 1987, Harrison et al. 1990, Arad & Simon-Berkovitch 1993).

Au delà du contrôle qu'exercent les différents facteurs environnementaux sur le métabolisme glucidique, les analyses effectuées chez *C. sorokiniana* indiquent également une accumulation considérable de ces composés en phase stationnaire de croissance. Ce phénomène a déjà été décrit à diverses reprises au travers d'études réalisées sur plusieurs espèces de Chlorophycées, de Diatomées, de Rhodophycées et de Cyanophycées (Myklestad 1974, Flaak & Epifanio 1978, Dermoun 1987, Behrens et al. 1989, Philips et al. 1989).

Parallèlement aux variations quantitatives du contenu en hydrates de carbone, il convient de souligner que des modifications qualitatives des composés glucidiques peuvent être observées. En effet, les travaux de Sabatie et al. (1986) et de Dermoun (1987) ont démontré que les polysaccharides produits par les algues subissaient des modifications structurales en fonction des paramètres de culture (température, intensité lumineuse, etc...) d'une part, et du stade de croissance d'autre part. De ce fait, toute tentative de valorisation de ces constituants devrait prendre en considération cet aspect à travers une analyse précise de la nature et de la structure des molécules glucidiques synthétisées.

Constituants essentiels des systèmes membranaires, les lipides représentent une part non négligeable de la biomasse algale. Chez *C. sorokiniana*, leurs teneurs oscillent, en fonction des conditions de culture, entre 13,2 et 24,8 % de la matière sèche des cellules. A une exception près (cas de la souche *Chlorella vulgaris* Cu tolérant, Shifrin & Chisholm 1980) la proportion des lipides est sensiblement la même pour les différentes espèces du genre *Chlorella* (Tableau 3), bien que, au sein des Chlorophycées, des variations interspécifiques considérables (allant de 1 à 70 % de la matière sèche) puissent être observées (Borowitzka 1988b). Ces variations sont dues aux particularités métaboliques spécifiques, d'une part, et à l'influence des paramètres de culture et de l'état physiologique des cellules, d'autre part. Chez *C. sorokiniana*, on observe en effet une accumulation plus prononcée des lipides lorsque les cultures sont soumises à des températures croissantes (de 25 à 35°C) ou à un faible éclaircissement (70 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). De même, les teneurs de ces constituants sont sensiblement plus faibles en phase stationnaire de croissance, par comparaison à celles des cultures en phase exponentielle de croissance.

Parmi les facteurs affectant les proportions en lipides chez les microalgues, on peut citer :

— la température (Aaronson 1973, Tedesco & Duerr 1989, Tan & Johns 1991),

— l'intensité lumineuse (Sukenik et al. 1989, Tedesco & Duerr 1989, Harrison et al. 1990, Renaud et al. 1991),

— la photopériode (Shifrin & Chisholm 1981),

— la concentration en CO₂ du milieu de culture (Becker & Venkatamaran 1980),

— la concentration et la nature de la source azotée (Shifrin & Chisholm 1980, Köst et al. 1984, Thomas et al. 1984a,b, Ben-Amotz et al. 1985, Harrison et al. 1990, Chen & Johns 1991),

— la concentration en silice, dans le cas des Diatomées (Shifrin & Chisholm 1981),

— la pression osmotique du milieu (Ben-Amotz et al. 1985, Al Hassan et al. 1990),

— la concentration en glucose, pour les cultures réalisées en condition d'hétérotrophie (Chen & Johns 1991, Tan & Johns 1991),

— le degré d'aération des cultures (Chen & Johns 1991, Tan & Johns 1991),

— le stade de croissance (Dubinsky et al. 1978, Piorreck et al. 1984, Barclay et al. 1985).

Cette multitude de paramètres rend compte de la complexité des mécanismes de régulation du métabolisme lipidique de ces organismes. D'ailleurs, il est actuellement très difficile, sinon impossible, de tirer des conclusions définitives quant à l'influence de tel ou tel facteur sur les processus de biosynthèse des lipides chez les algues. A titre d'exemples, chez *Chlorella vulgaris* les teneurs en lipides sont multipliées par un facteur de 4,5 (de 11,8 à 52,8 % de la matière sèche des cellules) en situation de carence azotée (Piorreck et al. 1984) alors que chez *Chlorella capsulata* la proportion des lipides reste inchangée aussi bien en présence qu'en absence de limitation azotée (+N : 11,7 %, -N : 11,4 %, Boussiba et al. 1985). De même, l'augmentation de la concentration en glucose du milieu de culture (de 5 à 20 g/l) n'affecte pas le contenu en lipides des cellules de *Chlorella saccharophila* (Tan & Johns 1991) alors que celui-ci diminue de manière considérable (de 45,5 % à 22,5 %) chez *Chlorella sorokiniana*, pour la même gamme de concentration en sucre (Chen & Johns 1991). Cette diversité de réponses vis-à-vis des mêmes facteurs environnementaux n'est pas une caractéristique du genre *Chlorella*, ni des Chlorophycées d'une manière générale, mais se retrouve également dans divers groupes d'algues (Cyanophycées, Bacillariophycées, Chrysophycées, etc...).

Au terme de cette étude, il est indispensable de souligner que la caractérisation biochimique globale de *C. sorokiniana* ne constitue qu'une première étape dans ce travail expérimental, et qu'un «screening» plus détaillé des constituants cellulaires s'impose dans une optique de valorisation de cette microalgue. Bien qu'elle soit potentiellement intéressante, de par ses teneurs relativement élevées en protéines, cette espèce pourrait être utilisée éventuellement pour la production d'autres substances d'intérêt alimentaire (vitamines, acides aminés, acides gras...) ou industriel (composés biologiquement actifs). Par ailleurs, les résultats obtenus ont permis de démontrer que la composition biochimique de *C. sorokiniana* pouvait être modifiée en fonction des conditions de culture. A ce titre, la prise en compte d'un éventail plus large de facteurs environnementaux devrait permettre de mieux cerner les potentialités offertes par cette microalgue.

Remerciements

Cette étude a été réalisée dans le cadre du programme "Sélection et valorisation des microalgues à intérêt alimentaire et industriel" par la JER 5001 associée à l'AUPELF-UREF. Les auteurs remercient les responsables de cette institution pour leur soutien financier.

Travaux cités

- Aaronson S. 1973. — Effect of incubation temperature on the macromolecular and lipid content of the phytoflagellate *Ochromonas danica*. *J. Phycol.*, 9: 111-113.
- Aaronson S., Berner T. & Dubinsky Z. 1980. — Microalgae as a source of chemicals and natural products. In *Algae Biomass*, Shelef G. & Soeder C.J. (Eds.), Elsevier Press, Amsterdam : 575-601.
- Al Hassan R.H., Ali A.M., Ka'wash H.H. & Radwan S.S. 1990. — Effect of salinity on the lipid and fatty acid composition of the halophyte *Navicula* sp. : potential in mariculture. *J. Applied Phycol.*, 2: 215-222.
- Arad S. & Simon-Berkovitch B. 1993. — Production of cell-wall polysaccharides from red microalgae. In *6th International Conference on Applied Algology*. Ceske Budejovice, République Tchèque, 6-11 Septembre 1993.
- Barclay B., Nagle N., Terry K. & Roessler P. 1985. — Collecting and screening microalgae from shallow, inland saline habitats. *SERI Aquatic Species Review*, SERI/CP-23-2700 : 52-68.
- Becker E.W. 1988. — Micro-algae for human and animal consumption. In *Micro-algal biotechnology*. Borowitzka M.A. & Borowitzka L.J. (Eds.), Cambridge University Press, London : 222-256.
- Becker E.W. & Venkatamaran L.V. 1980. — Production and processing of algae in pilot plant scale experiences of the Indo-German Project. In *Algae Biomass*, Shelef G. & Soeder C.J. (Eds.), Elsevier Press, Amsterdam : 35-50.
- Behrens P.W., Bingham S.E., Hoeksema S.D., Cohoon D.L. & Cox J.C. 1989. — Studies on the incorporation of CO₂ into starch by *Chlorella vulgaris*. *J. Applied Phycol.*, 1 : 123-130.
- Belkoura M. 1994. — *Chlorella sorokiniana* Shihira & Krauss : Ecophysiologie, modélisation de cultures et perspectives de valorisation de la biomasse algale. Thèse de Doctorat d'Etat es Sciences, Université Cadi Ayyad : 154 p. (+ Annexe).
- Belkoura M. & Dauta A. 1992. — Interaction lumière-température et influence de la photopériode sur le taux de croissance de *Chlorella sorokiniana* Shihira & Krauss. *Annls Limnol.*, 28 (2) : 101-107.

- Belkoura M. & Dauta A. 1994a. — Caractéristiques photosynthétiques de *Chlorella sorokiniana* Shihira & Krauss en relation avec l'intensité lumineuse et la température. Corrélation avec le taux de croissance. *Annls Limnol.*, 30 (1) : 3-9.
- Belkoura M. & Dauta A. 1994b. — Stockage intracellulaire des nutriments chez l'algue verte *Chlorella sorokiniana* Shihira & Krauss. *Annls Limnol.*, 30 (4) : 313-321.
- Ben-Amotz A., Tornabene T.G. & Thomas W.H. 1985. — Chemical profile of selected species of microalgae with emphasis on lipids. *J. Phycol.*, 21 : 72-81.
- Bensadoun A. & Weinstein D. 1976. — Assay of proteins in the presence of interfering materials. *Anal. Biochem.*, 70 : 241-250.
- Borowitzka M.A. 1988a. — Vitamins and fine chemicals from micro-algae. In *Micro-algal biotechnology*. Borowitzka M.A. & Borowitzka L.J. (Eds.), Cambridge University Press, London : 153-196.
- Borowitzka M.A. 1988b. — Fats, oils and hydrocarbons. In *Micro-algal biotechnology*. Borowitzka M.A. & Borowitzka L.J. (Eds.), Cambridge University Press, London : 257-287.
- Boussiba S. & Richmond A.E. 1980. — C-Phycocyanin as a storage protein in blue-green alga *Spirulina platensis*. *Arch. Microbiol.*, 125 : 143-147.
- Boussiba S., Vonshak A., Cohen Z., Abelovich A., Kaplan D. & Richmond A. 1985. — Development of outdoor system for production of lipid-rich halotolerant microalgae. *SERI Aquatic Species Review*, SERI/CP-231-2700 : 271-288.
- Cannell R.J.P., Owsianka A.M. & Walker J.M. 1988. — Results of large-scale screening programme to detect antibacterial activity from freshwater algae. *Br. phycol. J.*, 23 : 41-44.
- Chen F. & Johns M.R. 1991. — Effect of C/N ratio and aeration on the fatty acid composition of heterotrophic *Chlorella sorokiniana*. *J. Applied Phycol.*, 3 : 203-209.
- Chu W.L., Phang S.M. & Goh S.H. 1993. — Variations in growth, biochemical composition and pigmentation of *Ankistrodesmus convolutus* cultured under 12:12 H light-dark cycle and continuous illumination. In *6th International Conference on Applied Algology*. Ceske Budejovice, République Tchèque, 6-11 Septembre 1993.
- Cook J.R. 1963. — Adaptations in growth and division in *Euglena* effected by energy supply. *J. Protozool.*, 10 : 436-444.
- Dauta A. 1982. — Conditions de développement du phytoplancton. Etude comparative du comportement de huit espèces en culture. 1. Détermination des paramètres de croissance en fonction de la lumière et de la température. *Annls Limnol.*, 18 (3) : 217-262.
- Debro L.L. & Ward H.B. 1979. — Antibacterial activity of freshwater green algae. *Planta Med.*, 36 : 375-378.
- Dermoun D. 1987. — Ecophysiologie de *Porphyridium cruentum* : validation expérimentale d'un modèle de croissance. Etude de la production de polysaccharide. Thèse de Doctorat de l'Université de Technologie de Compiègne, France : 137 p.
- Dubinsky Z., Berner T. & Aaronson S. 1978. — Potential of large-scale algal culture for biomass and lipid production in arid lands. *Biotechnology and Bioengineering Symposium*, 8 : 51-68.
- Durand-Chastel H. 1982. — General characteristics of blue-green algae (Cyanobacteria): *Spirulina*. In *CRC Handbook of Biosolar Resources*. Zaborsky O.R. (Ed.), Boca Raton : CRC Press : 19-23.
- Endo H., Nakajima K. & Chino R. 1974. — Growth characteristics and cellular components of *Chlorella regularis*, heterotrophic fast growing strain. *Agr. Biol. Chem.*, 38(1) : 9-18.
- Fabregas J., Arredondo-Vega B.O., Morales E., Boubeta J. & Otero A. 1993. — Effect of different nitrogen source on the red alga *Porphyridium cruentum*. In *6th International Conference on Applied Algology*. Ceske Budejovice, République Tchèque, 6-11 Septembre 1993.
- Fattom A. & Shilo M. 1984. — *Phormidium* J-1 biofloculant: production and activity. *Arch. Microbiol.*, 139 : 421-423.
- Flaak A.R. & Epifanio C.E. 1978. — Dietary protein levels and growth of the oyster *Crassostrea virginica*. *Mar. Biol.*, 45 : 157-164.
- Foy R.H. 1983. — Interaction of temperature and light on the growth rates of two planktonic *Oscillatoria* species under a short photoperiod regime. *Br. phycol. J.*, 18 : 267-273.
- Foy R.H. & Gibson C.E. 1982. — Photosynthetic characteristics of planktonic blue-green algae: changes in photosynthetic capacity and pigmentation of *Oscillatoria redekei* Van Goor under high and low light. *Br. phycol. J.*, 17 : 183-193.
- Gibbs N. & Duffus C.M. 1976. — Natural protoplast *Dunaliella primolecta* as a source of protein. *Appl. envir. Microbiol.*, 31 : 602-604.
- Gibson C.E. 1985. — Growth rate, maintenance energy and pigmentation of planktonic Cyanophyta during one-hour light:dark cycles. *Br. phycol. J.*, 20 : 155-161.
- Gromov B.V., Vepritskiy A.A., Titova N.N., Mamkayeva K.A. & Alexandrova O.V. 1991. — Production of the antibiotic cyanobacterin LU-1 by *Nostoc linckia* CALU 892 (cyanobacterium). *J. Applied Phycol.*, 3 : 55-59.
- Harrison P.J., Thompson P.A. & Calderwood G.S. 1990. — Effects of nutrient and light limitation on the biochemical composition of phytoplankton. *J. Applied Phycol.*, 2 : 45-56.
- Kates M. 1972. — Techniques of lipidology. Isolation, analysis and identification of lipids. Work T.S. & Work E. (Eds.), North-Holland Publishing Company, Amsterdam : 610 p.
- Kessler E. 1976. — Comparative physiology, biochemistry, and the taxonomy of *Chlorella* (Chlorophyceae). *Plant Syst. Evol.*, 125 : 129-138.
- Kessler E. 1980. — Mass culture of *Chlorella* strains under conditions of high salinity, acidity, and temperature. *Algological Studies*, 26 : 80-86.
- Kessler E. 1985. — Upper limits of temperature for growth in *Chlorella* (Chlorophyceae). *Plant Syst. Evol.*, 151 : 67-71.
- Kessler E. 1986. — Limits of growth of five *Chlorella* species in the presence of toxic heavy metals. *Algological Studies*, 42 : 123-128.
- Konopka A. & Schnur M. 1980. — Effect of light intensity on macromolecular synthesis in cyanobacteria. *Microbiol. Ecol.*, 6 : 291-301.
- Köst H.P., Sanser M. & Wanner G. 1984. — Effect of nitrate and sulfate starvation on *Porphyridium cruentum* Cells. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 113 : 231-249.
- Kowallik W. 1978. — Blue light effects on carbohydrate and protein metabolism. In *Blue Light Responses : Phenomena and Occurrence in Plants*. Senger H. (Ed.), CRC Press, Florida, Vol. 1 : 8-13.
- Leavitt R.I. 1983. — Preparation of proline from algae. US patent no. 4 390 624.
- Materassi R., Paoletti C., Balloni W. & Florenzano G. 1980. — Some considerations on the production of lipid substances by microalgae and cyanobacteria. In *Algae Biomass*. Shelef G. & Soeder C.J. (Eds.), Elsevier Press, Amsterdam : 619-626.
- Morris I. 1981. — Photosynthetic products, physiological state, and phytoplankton growth. In *Physiological bases of Phytoplankton Ecology*. Platt T. (Ed.), *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.*, 210 : 83-102.
- Morris I., Glover E. & Yentsch C.S. 1974. — Products of photosynthesis by marine phytoplankton: the effect of environmental factors on the relative rates of protein and carbohydrate synthesis. *Mar. Biol.*, 27 : 1-9.
- Moulton T.P., Borowitzka L.J. & Vincent D.J. 1987. — The mass culture of *Dunaliella salina* for β -carotene: from pilot plant to production plant. *Hydrobiologia*, 151/152 : 99-105.
- Myklestad S. 1974. — Production of carbohydrates by marine planktonic diatoms. I. Comparison of nine different species in culture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 15 : 261-274.

- Phlips E.J., Zeman C. & Hansen P. 1989. — Growth, photosynthesis, nitrogen fixation and carbohydrate production by a unicellular cyanobacterium, *Synechococcus* sp. (Cyanophyta). *J. Applied Phycol.*, 1 : 137-145.
- Piorreck M., Baasch K.H. & Pohl P. 1984. — Biomass production, total protein, chlorophylls, lipids and fatty acids of freshwater green and blue-green algae under different nitrogen regimes. *Phytochemistry*, 23 (2) : 207-216.
- Piquemal F. 1990. — Contribution à l'étude écophysiological de quelques espèces d'algues en culture. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse III : 137 p.
- Rausch T. 1981. — The estimation of micro-algal protein content and its meaning to the evaluation of algal biomass. I. Comparison of methods for extracting protein. *Hydrobiologia*, 78 : 237-251.
- Renaud S.M., Parry D.L., Thinh L.V., Kuo C., Padovan A. & Sammy N. 1991. — Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture. *J. Applied Phycol.*, 3 : 43-53.
- Robinson S.P. & Walker D.A. 1981. — Photosynthetic carbon reduction cycle. In *The Biochemistry of Plants. A comprehensive treatise. Volume 8: Photosynthesis*. Hatch M.D. & Boardman N.K. (Eds.), Academic Press, New York : 193-236.
- Sabatie J., Choplin L., Paul F. & Monsan P. 1986. — The effect of synthesis temperature on the rheological properties of native dextran. *Biotechnology Letters*, 8 (6) : 425-430.
- Schwartz J., Shklar G., Reid S. & Trickler D. 1988. — Prevention of experimental oral cancer by extracts of *Spirulina-Dunaliella* algae. *Nutrition and Cancer*, 11 (2) : 127-134.
- Semenenko V.E. 1993. — Adaptative properties and genetic control of the alga cell metabolism. In *6th International Conference on Applied Algology*. Ceske Budejovice, République Tchèque, 6-11 Septembre 1993.
- Shields R. & Burnet W. 1960. — Determination of protein-bound carbohydrate in serum by a modified anthrone method. *Analytical Chemistry*, 32 : 885-886.
- Shifrin N.S. & Chisholm S.W. 1980. — Phytoplankton lipids: environmental influences on production and possible commercial applications. In *Algae Biomass*, Shelef G. & Soeder C.J. (Eds.), Elsevier Press, Amsterdam : 627-645.
- Shifrin N.S. & Chisholm S.W. 1981. — Phytoplankton lipids: interspecific differences and effects of nitrate, silicate and light-dark cycles. *J. Phycol.*, 17 : 374-384.
- Subbulakshmi G., Becker E.W. & Venkataraman L.V. 1976. — Effect of processing on the nutrient content of green alga *Scenedesmus acutus*. *Nutrition Reports International*, 14 : 581-591.
- Sukenik A., Carmeli Y. & Berner T. 1989. — Regulation of fatty acid composition by irradiance level in the eustigmatophyte *Nannochloropsis* sp. *J. Phycol.*, 25 : 686-692.
- Tan C.K. & Johns M.R. 1991. — Fatty acid production by heterotrophic *Chlorella saccharophila*. *Hydrobiologia*, 215 : 13-19.
- Tedesco M.A. & Duerr E.O. 1989. — Light, temperature and nitrogen starvation effects on the total lipid and fatty acid content and composition of *Spirulina platensis* UTEX 1928. *J. Applied Phycol.*, 1 : 201-209.
- Thomas W.H., Seibert D.L.R., Alden M., Neori A. & Eldridge P. 1984a. — Yields, photosynthetic efficiencies and proximate chemical composition of dense marine microalgal cultures. I. Introduction and *Phaeodactylum tricorutum* experiments. *Biomass*, 5 : 181-209.
- Thomas W.H., Seibert D.L.R., Alden M., Neori A. & Eldridge P. 1984b. — Yields, photosynthetic efficiencies and proximate chemical composition of dense marine microalgal cultures. II. *Dunaliella primolecta* and *Tetraselmis suecica* experiments. *Biomass*, 5 : 211-225.
- Trubachev N.I., Gitel'zon I.I., Kalacheva G.S., Barashkov V.A., Belyanin V.N. & Andreeva R.I. 1976. — Biochemical composition of several blue-green algae and *Chlorella*. *Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya*, 12 : 196-202.
- Vladimirova M.G., Rudova T.S., Shatilov V.R., Salamatova L.V. & Nazarova G.D. 1979. — Comparative characterization of *Chlorella pyrenoidosa* Chick 82 and *Chlorella pyrenoidosa* Pringsheim 82T under intensive culture conditions. *Soviet Plant Physiol.*, 26 : 913-920.
- Wallen D.G. & Geen G.H. 1971. — Light quality in relation to growth, photosynthetic rates and carbon metabolism in two species of marine plankton algae. *Mar. Biol.*, 10 : 34-43.
- Zhukova T.S., Klyachko-Gurvich G.L., Vladimirova M.G. & Kurnosova T.A. 1969. — Comparative characterization of the growth and direction of biosynthesis of various strains of *Chlorella* under conditions of nitrogen starvation. II. Formation of carbohydrates and lipids. *Soviet Plant Physiol.*, 16 : 79-83.